



الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
République Algérienne Démocratique et Populaire

وزارة التعليم العالي والبحث العلمي
Ministère de l'enseignement supérieur et de la recherche scientifique



Université des Frères Mentouri Constantine 1
Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie

جامعة الاخوة منتوري قسنطينة
كلية علوم الطبيعة والحياة

Département de de Biochimie et Biologie Cellulaire et Moléculaire

قسم الكيمياء الحيوية والبيولوجيا الخلوية والجزيئية

Mémoire présenté en vue de l'obtention du diplôme de Master

Domaine : Sciences de la Nature et de la Vie

Filière : Sciences Biologiques

Spécialité : *Biochimie Appliquée*

N° d'ordre :

N° de série :

Intitulé :

**Etude bibliographique du Champignon *Pleurotus eryngii* et
extraction des triterpènes à partir de l'espèce Algérienne**

Présenté et soutenu par : Djebli Rayene

Le 10/09/2020

Rebiai Amani

Jury d'évaluation :

Président : Mr BENSEGUENI A.

(Professeur à UFM, Constantine 1)

Encadreur : Mme TENIOU S.

(MAA à UFM, Constantine 1)

Examineur : Mr CHIKHI A.

(Professeur à UFM, Constantine 1)

Année universitaire 2019 – 2020



Remerciements

En premier lieu, nous tenons à remercier notre Dieu « ALLAH » le tout puissant, de nous avoir accordé la force, le courage et la patience pour terminer ce travail.

*Nous adressons nos vifs remerciements à notre encadrante Mme **Teniou Soumia**, on la remercie pour sa gentillesse, sa disponibilité et sa patience durant des intenses et rationnelles discussions qui nous ont permis de réaliser ce travail dans de bonnes conditions.*

*Nous tenons à remercier également, le président et les membres du jury « **Mr BENSEGUENI A** » et « **Mr CHIKHI A** » de nous avoir fait l'honneur d'accepter d'évaluer cet humble travail.*

Enfin nous voulons dire merci à tous les enseignants du département de biochimie à l'université de Constantine 1 pour l'aide durant notre formation d'étude.

A toutes les personnes qui nous ont aidée de proche ou de loin.

AMANI & RAYENE











Dédicace

J'ai le grand honneur de dédier ce modeste travail :

A ceux qui m'ont encouragé et soutenue moralement et matériellement pendant les moments difficiles et durant toute ma vie.

-  *A mon très cher père et ma très chère mère qui m'ont donné la possibilité d'arriver là où je suis que le bon « ALLAH » vous garde en bonne santé.*
-  *A mes très chers frères **Abdou** et **Midou**, et ma chère sœur **Maroua**.*
-  *A ma jolie cousine **Houda** qui m'a vraiment aidée par ses corrections et instructions je suis reconnaissante.*
-  *A mon binôme **Rayene** qui a partagé avec moi tous les moments difficiles tout au long de notre étude.*
-  *A mes amis d'étude avec qui j'ai passé des moments agréables mes deux adorables : **Meriem** et **Ferial**.*
-  *Sans oublier mes amies de promotion 2019/2020 Master 2 biochimie appliquée et tous ceux qui ont un jour compté dans ma vie.*

AMANI



Dédicace

J'ai le plaisir de dédier ce modeste travail :

*A ceux qui m'ont donné de l'amour; de la tendresse et de la force tout au long de mes études : ma très chère **mère** et mon très cher **père** ; que Dieu vous protège et vous prête une longue et heureuse vie.*

*A ma chère sœur **Lina** et mes chers frères **Oussama** et **Zakaria***

*A ma chère **grand-mère** et mon cher **grand-père** pour leurs belles prières pour moi, que Dieu les protège et prolonge leur vie*

*A toute ma grande famille, surtout **ma tante** et mon **grand-oncle** pour leur motivation tout au long de mon parcours universitaire*

*A l'âme de mon cher oncle **Muhammed** que Dieu ait pitié de lui*

*A mes chères amies d'étude que nous avons partagé d'agréables moments tout au long de notre cursus universitaire : **Meriem** et **Ferial***

*A ma chère amie et mon binôme **Amani**, ensemble nous avons pu faire et achevé ce travail,*

Que ce travail soit l'accomplissement de vos vœux tant allégués, et le fruit de votre soutien infailible,

Merci d'être toujours là pour moi.

Rayene

Table des matières

Liste des figures.....

Liste des tableaux.....

Liste des abréviations.....

Sommaire

Introduction **1**

Etude bibliographique

I.	Les champignons	2
1.	Généralités sur les champignons	2
1.1.	Historique	2
1.2.	Le règne fongique	2
1.2.1.	Caractéristiques des champignons	2
1.2.2.	Mode de vie des champignons	3
1.3.	Classification	3
1.4.	Importance des champignons dans les différents domaines..	3
1.4.1.	Du point de vue biologique et nutritionnel	3
1.4.2.	Dans le domaine économique	4
1.4.3.	Dans le domaine écologique	4
2.	Pleurotes	4
3.	<i>Pleurotus eryngii</i>	5
3.1.	Etymologie	5
3.2.	Taxonomie et classification	6
3.3.	Description	6
3.4.	Localisation	7
3.5.	Répartition géographique	7
3.6.	Composition chimique	8
3.7.	Usage traditionnel	8
3.8.	Intérêt thérapeutique	9

II.	les métabolites secondaires	10
1.	Généralité	10
1.1.	Définition et fonction	10
1.2.	Les métabolites secondaires chez les champignons	10
1.3.	Classification des métabolites secondaires	10
1.3.1.	Les alcaloïdes	11
1.3.2.	Les composés phénoliques	11
1.3.3.	Composés terpéniques	11
2.	les métabolites secondaires chez les <i>Pleurotus eryngii</i>	13
III.	Les triterpènes	14
1.	Généralité	14
1.1.	Définition	14
1.2.	Structure et voie de biosynthèse	14
1.3.	Sources	16
1.4.	Classification et Catégorie	17
1.4.1.	les stéroïdes	17
1.4.2.	Les saponosides (les saponines)	17
1.4.3.	Les hétérosides cardiotoniques	17
1.4.4.	Autres triterpènes	17
1.5.	Les effets thérapeutiques et industriels	18
2.	Triterpènes chez <i>P.eryngii</i>	19
	<i>Partie expérimentale</i>	
	<i>Matériel et méthode</i>	
1.	Matériel fongique (Échantillonnages)	20
1.1.	Identification de champignon	20
1.2.	Choix du champignon	20
1.3.	Récolte de matériel.....	20
2.	Criblage des triterpènes (Détection et caractérisation).....	21
3.	Extraction.....	22

3.1.	Préparation d'extrait.....	22
3.2.	Extraction liquide-liquide.....	24
<i>Résultats</i>		
1.	Criblage des triterpènes	27
	<i>Conclusion et perspectives</i>	28
	Références bibliographiques.....	
	Résumé.....	

Liste des figures

Figure 1 :	Pleurote de panicaut	6
Figure 2 :	Comment le reconnaître?	7
Figure 3 :	Teneur en éléments (mg / kg champignon sec) dans P. panicaut.....	8
Figure 4 :	Squelettes de base des triterpènes	14
Figure 5 :	Structure plane de l'IPP	15
Figure 6 :	Structure plane du DMAPP.....	15
Figure 7 :	La voie du mévalonate et biosynthèse du squelette terpénoïde	15
Figure 8 :	La structure du squalène et l'époxy-squalène	16
Figure 9 :	Exemples de structures triterpéniques.....	16
Figure 10 :	<i>Pleurotus eryngii</i>	20
Figure 11 :	Carte géographique de la zone de récolte.....	21
Figure 12 :	Séchage, broyage.....	21
Figure 13 :	Macération.....	22
Figure 14 :	Montage de chauffage à reflux.....	23
Figure 15 :	Filtration sous vide.....	23
Figure 16 :	Élimination du solvant par l'évaporateur rotatif....	23
Figure 17 :	Affrontement d'extrait du " <i>pleurotus eryngii</i> " avec EP et EtOAc	25
Figure 18 :	Organigramme récapitulatif des étapes d'extraction des triterpènes	26

Liste des tableaux

Tableau I :	Classification du champignon <i>Pleurotus eryngii</i>	6
	résultat de recherche des triterpènes chez le <i>Pleurotus</i>	
Tableau II :	<i>eryngii</i>.....	28

Liste des abréviations

Abréviations et symboles	Symboles utilisée pour les composés mentionnés dans la littérature
C	Carbone
ChCl₃	Chloroforme.
DMAPP	diméthylallyl-pyrophosphate
DPPH	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl
EP	Ether de pétrole
EtOAc	Acétate d'éthyle.
FSNV	Faculté des Sciences de la Nature et de la Vie
H₂ SO₄	Acide sulfurique
HMG-COA	Hydroxy-Méthyl-Glutaryl-Coenzyme A.
IR	Infrarouge
IPP	Isopentenyl pyrophosphate
MeOH	méthanol
n-BuOH	n-Butanol
NK	Natural Killer
P	Pleurotus ou Pleurote
RMN	Résonance magnétique nucléaire
UV	Ultraviolet
V/V	Volume par volume
%	Pourcentage

Introduction

Les champignons font partie de l'Histoire culturelle de l'Humanité. Quand on parle de champignons, on pense tout d'abord à leur comestibilité ou leur toxicité et moins à leurs propriétés thérapeutiques. Cependant l'utilisation des champignons pour soigner, discipline appelée mycothérapie, existe depuis des temps immémoriaux, au même titre que la phytothérapie. Une étude a démontré que nombreux champignons produisent une gamme de métabolites d'un intérêt intense pour les industries nutraceutique et pharmaceutique (par exemple, anti-tumorale, immunomodulatrice et hypocholestérolémiante) et alimentaire (par exemple, composé d'arôme), il existe environ 650 espèces de champignons ayant démontré des propriétés antitumorales. [1,2,3]

A cet effet le champignon *Pleurotus eryngii* communément appelé Pleurote du panicaut du nord-est d'Algérie retient davantage notre attention, ce champignon est un excellent comestible, il est même considéré comme l'un des meilleurs champignons, reconnue par son bon goût, sa richesse nutritive, et par ses propriétés curatives particulières bénéfiques pour la santé humaine. Ceci révèle l'importance de réaliser une étude sur l'une des familles chimiques les plus importantes du métabolisme secondaire du champignon *Pleurotus eryngii* ; les triterpènes. [4,5]

Les triterpènes sont des substances d'origine organique qui appartiennent à la famille des terpènes avec plus de 100 squelettes différents. Ils constituent l'un des groupes de produits naturels les plus intéressants en raison de leur potentiel élevé en tant qu'agents pharmacologiques. Ils comprennent un large groupe chimique de principes actifs, sont impliqués dans les mécanismes d'action de nombreuses plantes et champignon médicinales utilisées en médecine traditionnelle contre plusieurs maladies, ils ont été décrits comme des agents anti-inflammatoires, antiviraux, antimicrobiens et antitumoraux, ainsi que comme des composés immunomodulateurs. [6,7]

Les travaux que nous avons effectués sur notre champignon dans ce cadre sont rapportés dans les étapes suivantes :

- Dans la première étape une étude bibliographique a été effectuée sur le champignon *Pleurotus eryngii* et les différents types des métabolites secondaires, notamment les triterpènes.
- Caractérisation des triterpènes dans l'extrait du champignon par une simple réaction (réaction de Liebermann).
- Une extraction générale des métabolites secondaires a été effectuée en utilisant le solvant d'extraction : méthanol.
- Extraction liquides-liquide des triterpènes totaux, en utilisant trois solvants : Ether de pétrole, Acétate d'éthyle et le n-Butanol, selon la méthode générale.

Etude bibliographique

I. Les champignons

1. Généralités sur les champignons

1.1 Historique

La mycologie est une science relativement récente qui a pour objet l'étude des champignons, alors que ces derniers sont apparus depuis le début de la vie sur terre il y a environ 4,5 milliards d'années. Le père de la mycologie pour tous les mycologues n'est autre qu'Elias FRIES (un Suédois) qui fixe les bases de la systématique en mycologie en 1821. C'est à partir de cette date que l'on peut véritablement parler de mycologie, bien qu'à l'époque cette systématique ne soit basée que sur la macroscopie. C'est un peu plus tard en 1905 que les caractères microscopiques sont introduits dans la classification des champignons. La mycologie ne cesse d'ailleurs d'évoluer. [8]

1.2 Le règne fongique

Les Champignons, encore appelés "Fungi" (du latin) ou mycètes (du grec mukês), ce ne sont ni des animaux, ni des végétaux. Les champignons sont donc aujourd'hui érigés en un règne autonome celui des Fungi. [3]

Actuellement il existe plus de 400 genres et 100 000 espèces différentes de champignons. Certains sont minuscules, voire microscopiques, ce sont les micromycètes, comme les levures qui font lever la pâte à pain par exemple. Et puis, il y a les champignons que tout le monde a pu voir, sans microscope ou binoculaire : les champignons macroscopiques. Ce sont les macromycètes qui sont, les uns, un délice dans l'assiette; les autres des poisons dangereux et parfois mortels. [9]

1.2.1. Caractéristiques des champignons

Les champignons présentent les caractéristiques suivantes qui les distinguent des plantes et des animaux : ce sont des organismes eucaryotes possédant donc de véritables noyaux. Les champignons sont généralement constitués d'un appareil végétatif ramifié, diffus, non différencié et tubulaire appelé thalle. Plus rarement, certains champignons peuvent rester sous forme unicellulaire : il s'agit des levures. Ce thalle, non cloisonné chez les champignons inférieurs (Zygomycota, Glomeromycota) est appelé siphon alors qu'il est cloisonné chez les champignons dits supérieurs (Ascomycota et Basidiomycota) ; il est constitué d'hyphes mycéliennes. Leur paroi cellulaire est composée de chitine ce qui les rapproche des animaux. Enfin, les champignons se reproduisent généralement par des spores non flagellées. [10]

1.2.2. Mode de vie des champignons

Concernant le mode de vie fongique, ce sont donc des organismes hétérotrophes dont la nutrition carbonée est dépendante de la présence de matières organiques préformées, ce qui conditionne, suivant les circonstances, leur vie saprophytique sur les débris animaux ou végétaux, parasitaire sur les arbres, les plantes ou les cultures ou symbiotique (mycorhizes) en association de la racine d'une plante et du mycélium. [3,11]

1.3 Classification

La classification des champignons a été constamment remaniée. Les champignons étaient classés sur la base de leur morphologie, selon leurs caractères phénotypiques, leurs mécanismes de reproduction et également selon leurs habitats, leurs localisations géographiques et leurs modes de vie. [12]

Les spécialistes répartissent les champignons en trois grandes familles: les **macromycètes** (signifiant «visibles à l'œil nu»), les **moisissures** (qui se repèrent à leurs filaments ténus) et les **levures** (qui sont monocellulaires). [11]

Parmi les macromycètes, on classe les champignons dans deux grands groupes appelés divisions:

Les **Basidiomycètes** qui regroupent les champignons à lames, à plis, à aiguillons...

Les **Ascomycètes** regroupent les champignons alvéolés, en forme de coupe ou encore en forme d'aspérités ou de boules noires très dures poussant sur du bois.

Les champignons sont ensuite divisés par classe, **ordre, famille, genre, espèce, variété** ou **forme**.

Les **Myxomycètes** sont placés désormais dans un règne autonome. [8]

1.4 Importance des champignons dans les différents domaines

1.4.1. Du point de vue biologique et nutritionnel

Ils jouent un rôle très important dans le recyclage des matières mortes comme les débris végétaux et animaux. [13]

Ces décomposeurs vont fertiliser le sol et jouent un rôle primordial dans les écosystèmes. Il faut noter que leur richesse en enzymes leur permet de dégrader la cellulose et même la lignine et d'éviter l'accumulation des déchets végétaux en forêt notamment. Certaines espèces

sont indicatrices d'écosystèmes particuliers qui peuvent être menacés par l'urbanisme et doivent être pris en compte lors de l'aménagement du territoire. Ils ont donc un rôle très important dans l'équilibre et le maintien des écosystèmes. [3]

1.4.2. Dans le domaine économique

Certains saprophytes attaquent divers matériaux et peuvent ruiner toutes sortes de denrées, de matières premières et peuvent dans certains cas ruiner des récoltes, des stocks commerciaux de céréales, de fruits, de légumes, de cuirs, de bois, etc. Néanmoins d'autres espèces apportent leurs concours à la fabrication de certaines denrées alimentaires (fromage, pain). D'autres sont utilisées pour la synthèse de molécules utiles dans l'industrie alimentaire ou pharmaceutique. [3]

1.4.3. Dans le domaine écologique

Les espèces symbiotiques permettent la régénération forestière par des mycorhizes adaptées. En effet, le mycélium apporte à l'arbre eau, sels minéraux et différents métabolites, recevant en retour la matière organique indispensable à son alimentation. Les champignons font office d'antagonistes chimiques vis-à-vis de parasites, de prédateurs et de concurrents divers. Les champignons participent donc à l'équilibre biocénoses au même titre que tous les êtres vivants. [3]

2. Pleurotes

Nom Pleurotus: plèvre (grec) = la page, otos (grec) = oreille. [14]

Effectivement, quand on regarde le pleurote bien en face, on voit bien que son beau chapeau a la forme d'une mignonne petite oreille. Et que son pied est décentré par rapport au chapeau. [15]

Le genre Pleurotus (pleurote) est un organoleptique champignon à croissance rapide qui appartient au groupe basidiomycota. Bien que 70 espèces soient découvertes jusqu'à présent pour ce genre. Il appartient à l'Ordre des Agaricales et à la famille des Pleurotacées. L'identification spécifique à l'espèce des taxons du genre Pleurotus est souvent difficile, car la morphologie et la couleur des fructifications sont importantes selon les conditions environnementales montre de la variété. [14 ,16]

Le pleurote est un saprophyte dans la nature, où il pousse facilement sur une variété de substrats organiques comme décomposeur, jouant un rôle clé dans le cycle global du carbone.

[17]

Les pleurotes sont excellents dans leur goût , Ils sont classés au troisième rang dans la production mondiale de champignons comestibles après *Agaricus bisporus* et *Edodes lentinula*, et comprennent diverses espèces comestibles avec des applications médicales, biotechnologiques et environnementales. [14,18]

Ils ont été utilisés dans l'alimentation humaine à travers le monde en raison de leurs riches nutriments tels que les protéines, les glucides, les minéraux, les vitamines et lipides. Il convient de noter que de faibles quantités de calories, de sodium, de graisses et de cholestérol sont signalées dans ce genre. [16]

3. *Pleurotus eryngii*

3.1 Etymologie

Pleurotus eryngii est en fait un complexe d'espèces avec trois variétés (var. *eryngii* : il vit principalement sur les racines d'*Eryngium campestre* plante ; var. *ferulae* : sur le système racine *Ferula* les espèces végétales ; var. *nebrodensis* : vivant *Cachrys ferulaceae* plante).

[19]

L'espèce tire son nom de l'iris (*Eryngium campestre*), qui a des pousses, ils cassent leurs graines puis les roulent comme un char. [14]

Différents noms par pays : connue sous le nom de "**Pleurote du Panicaut**" (France) ; "**Cardoncello**" (Italie) ; "**Pleurote royale**" (États-Unis) ; "**seta de cardo**" (Espagne) ; "**kruisdisteloesterzwam**" ou "**krauterseitling**" (Allemagne), d'autres noms communs sont "**argonane**", "**bouligoule**", "**Champignon de garrigue**" et "**cèpes des steppes**", "**Champignon King oyster**" , "**Trumpet**", "**champignon de montagne**", "**le pleurote roi**", Aussi appelée "**amande pleurotes**", "**ombelle pleurotes**", "**champignons coquille Saint-Jacques**", et "**Boletus des steppes**". [14,20,21]



Figure 1 : Pleurote de panicaut. [22]

3.2 Taxonomie et classification

Règne : Fungi	
Division: Basidiomycota	
S/Division : Agaricomycotina.	
Classe: Agaricomycetes	
Sous-classe : Agaricomycetidae	
Ordre: Agaricales	
Famille: Pleurotaceae	
Genre: Pleurotus	
Espèce: <i>Pleurotus eryngii</i>	

Tableau I : Classification du champignon *Pleurotus eryngii*. [23,24]

3.3 Description

Nom : *Pleurotus eryngii* (Pleurote du panicaut)

Chapeau : charnu, au départ convexe avec une marge enroulée, puis un peu déprimé, de 5 à 15 cm de diamètre et de couleur brun foncé à l'état jeune et s'éclaircissant avec l'âge

Lames : blanchâtres, larges, espacées et extrêmement décurrentes

Pied : ferme, court et de couleur blanchâtre Chair : blanche et ferme

Récolte : Été-automne, pousse sur les souches de panicaut dans les prés et les dunes. [1]

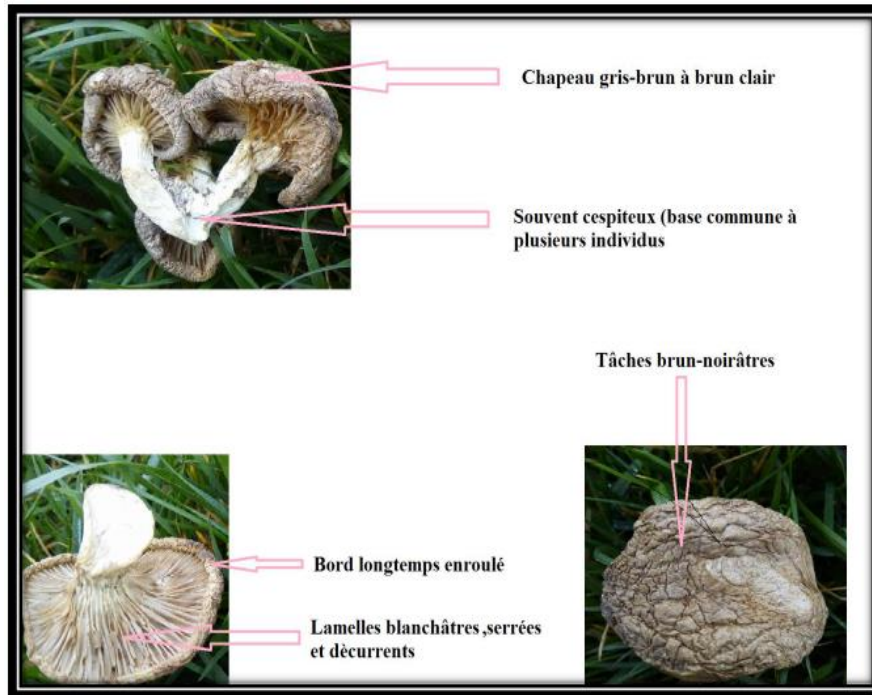


Figure 2 : comment le reconnaître ?

3.4 Localisation

Le "**pleurote royal**" pousse sur la racine morte de la plante *Eryngium compestris*

Dans les pâturages, les prairies, les jardins, principalement avec des plantes parapluies, ce champignon pousse à leurs racines et à leurs tiges. Rarement dans les pelouses forestières, peut être trouvé dans les collines, il peut également être trouvé dans les steppes, dans les champs secs et même dans les zones montagneuses, et peut vivre à la base des racines ou des tiges des plantes vivantes de la famille des Apiacées. [14,25,26]

Ce pleurote demande quelques conditions pour faire ses apparitions. Une belle prairie sur un sol à tendance calcaire, plutôt sec, caillouteux, océanique ou méditerranéen et quelques restes de panicaut. [23]

3.5 Répartition géographique

Les espèces de *Pleurotus* associées aux inflorescences sont situées dans l'hémisphère nord dans les années 30 et 50. Ces espèces sont principalement méditerranéennes régions subtropicales, ainsi qu'en **Europe centrale, en Russie, en Ukraine, Asie centrale, Iran et Chine**. Il est très répandu dans le **sud de l'Europe** et les régions de **l'Asie centrale et en Afrique du Nord**. Sa répartition est assez vaste en **Europe occidentale**, il est signalé en **France**, on le signale autour du Bassin méditerranéen (**Espagne, Italie, Corse**). Ce pleurote est cultivé depuis pas mal d'années en **Asie, Corée du Sud, Japon, en Australie**, mais aussi **Italie, Afrique du Sud, Amérique...** [14,21,23,27]

3.6 Composition chimique

Les basidiomes *Pleurotus eryngii* ont une valeur nutritive élevée. Ils sont riches en **glucides**, la **chitine** et les **polysaccharides**. *P. panicaut* a été caractérisé par la teneur totale en **protéines** plus faible suivie de la plus forte teneur en **sucres** totaux et en **matières grasses** totales. [28]

Les **acides aminés** les plus abondants sont l'acide aspartique, l'acide glutamique et l'arginine. Concentrations significatives de **vitamines** (C, A, B2, B1, D et niacine) et de **minéraux** (en particulier K, Mg, Na et Ca), de très faibles quantités de **lipides** (0,8% du poids frais) et une humidité élevée (entre 86,6% et 91,7%) sont présentes dans les basidiomes (figure 3). [26]

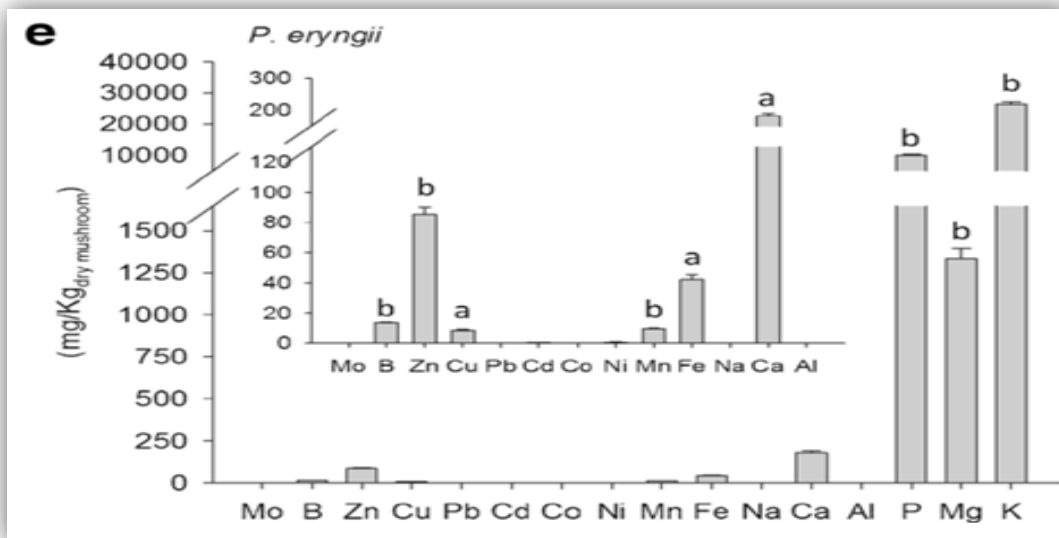


Figure 3 : teneur en éléments (mg / kg champignon sec) dans *P. panicaut*. [28]

3.7 Usage traditionnel

P. eryngii joue un rôle dans la production alimentaire (basidiomes comestibles), la biotransformation des matières végétales brutes pour l'alimentation, la biopulpage et la lixiviation biologique de la pâte à papier, comme ainsi que la biorestauration des sols et des eaux industrielles. [26]

Le *P. de panicaut* est un candidat exceptionnel pour la culture. Principalement parce qu'il est considéré par beaucoup comme ayant meilleur goût que les autres espèces de pleurotes. D'autres propriétés souhaitables comprennent une durée de conservation relativement longue, une dispersion des spores relativement faible et un prix du marché plus élevé. [14]

3.8 Intérêt thérapeutique

Cancer : activité anticancéreuse due à la présence de polysaccharides jouant un rôle principal dans le renforcement de l'activité antitumorale, et surtout les polysaccharides hydrosolubles qui ont la capacité de supprimer de manière significative la croissance tumorale *in vivo* chez les souris. [1,29]

Stress oxydatif : *Pleurotus eryngii* s'est avéré actuellement posséder une activité antioxydante qui était également corrélée avec leur contenu phénolique et polysaccharidique total, dans lequel présente 69,67% d'activité de piégeage de DPPH et 70,82% d'activité de chélation, qui augmentaient avec l'augmentation de la concentration. [29]

Cholestérol : activité anti-cholestérol protectrice du système cardiovasculaire due à la présence de polysaccharides, de fibres jouant sur l'absorption mais également de molécules (Polysaccharides, lovastatine, ...) qui en inhibant l'HMG-CoA réductase vont diminuer la synthèse du cholestérol. [1]

Maladies du foie : prévention grâce à la présence de polysaccharides hépatoprotecteurs et anti-oxydants. [1]

Effets immunomodulateurs: De nombreuses études ont rapporté l'effet immunomodulateurs de *Pleurotus eryngii* de façon ils ont trouvé que les cultures mycéliennes submergées de ce pleurote peuvent augmenter l'activité des cellules tueuses naturelles (NK). [29]

Ce champignon a des propriétés antihypertensives, antihypercholestérolémiques, antihyperglycémiques, immunomodulatrices, antitumorales, antibactériennes, antivirales, antifongiques, anti-ostéoporotiques, **anti-radicalaires** et anti-allergiques. Il inhibe aussi **l'angiogenèse**, et les **cellules cancéreuses du côlon** sa poudre a été utilisée comme médicament anthelminthique. [14,20,26]

Ces propriétés bioactives dépendent de ses composés bioactifs tels que des polysaccharides, des eryngiolide A, ubiquinone-9, pentacyclique triterpénoïdes et ainsi de suite. [29]

Mais en plus de ses nombreuses propriétés médicinales, les spores de *P. eryngii* peuvent provoquer une pneumonite hypersensible basée soit sur l'activation de pneumocytes à cellules de type II ou d'épithélium des voies respiratoires périphériques, soit sur une augmentation de la perméabilité des structures pulmonaires. [26]

II. les métabolites secondaires

1. Généralités

1.1. Définition et fonction

Le terme "métabolite secondaire" fût employé pour la première fois en 1891 par "Kossel", qui le définit ainsi : «...les métabolites secondaires ne sont présents que de façon 'accidentelle' et ne sont pas essentiels à la vie de la plante».

Les métabolites secondaires sont des molécules de faible poids moléculaire synthétisées au cours du métabolisme secondaire à partir de précurseurs issus du métabolisme primaire, dans des conditions de stress pour répondre aux variations des conditions environnementales, contrairement aux métabolites primaires, ils n'interviennent pas directement dans le fonctionnement fondamental des organismes, mais sont impliqués dans les relations de l'organisme avec son environnement. Il s'agit donc souvent de composés de défense, d'adaptation à l'environnement. [30,31]

1.2. Les métabolites secondaires chez les champignons

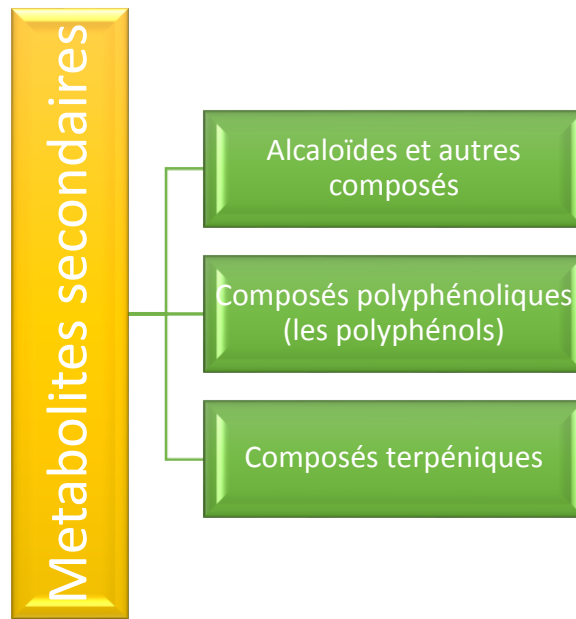
Les métabolites secondaires sont des composés non essentiels au métabolisme basique des champignons. Ces composés sont généralement produits au cours de l'idiophase (la phase de croissance d'une culture au cours de laquelle des métabolites secondaires sont produits) et sont très diversifiés au niveau de leur structure chimique. [32]

Les champignons sont des producteurs prolifiques de métabolites secondaires. "Turner" a enregistré presque 1000 produits fongiques en 1971. En 1983, le chiffre avait plus que doublé. Les champignons supérieurs produisent presque 2000 composés bioactifs présentant une grande versatilité structurale et bioactive. [32,33]

La nature chimique très variée des métabolites secondaires est à l'origine de leurs propriétés odoriférantes ou colorantes, ainsi que de leurs vertus thérapeutiques connues depuis des temps reculés. Non seulement les champignons peuvent montrer des productions impressionnantes mais leurs produits peuvent aussi avoir une grande importance commerciale. Les antibiotiques comme les pénicillines, les céphalosporines et la cyclosporine B sont largement prescrites comme médicaments et sont classées dans les 5 % de vente des produits pharmaceutiques. [32,34]

1.3. Classification des métabolites secondaires

Les métabolites secondaires sont majoritairement divisés en trois grands groupes provenant de trois voies biochimiques distinctes : [31]



Chacune de ces classes renferme une très grande diversité de composés qui possèdent une très large gamme d'activités en biologie humaine. [35]

1.3.1. Les alcaloïdes

Ce sont des produits azotés basiques, d'origine naturelle dont l'atome d'azote est inclus dans un système hétérocyclique et dont l'activité pharmacologique est significative. Leur fréquente toxicité, même à faible dose, est souvent l'argument principal pour mettre en évidence la fonction de défense contre la prédation dans les interactions plante-herbivore. Egalement, Ils agissent en tant que : déprimeurs au niveau du système nerveux central, stimulants, anesthésiques locaux, ganglioplégiques, arasympathomimétique... [35,36]

1.3.2. Les composés phénoliques

Ils se caractérisent par un noyau benzénique, portant un groupement hydroxyle libre ou engagé dans une fonction ester, éther ou hétéroside. Le ou les noyaux aromatiques peuvent être synthétisés soit par la voie du shikimate, soit par celle de l'acétate, ce qui permet de différencier deux classes de composés phénoliques. [35]

Les polyphénols sont des molécules très diversifiées, constituées d'un ou plusieurs cycles benzéniques portant une ou plusieurs fonctions hydroxyles. [37]

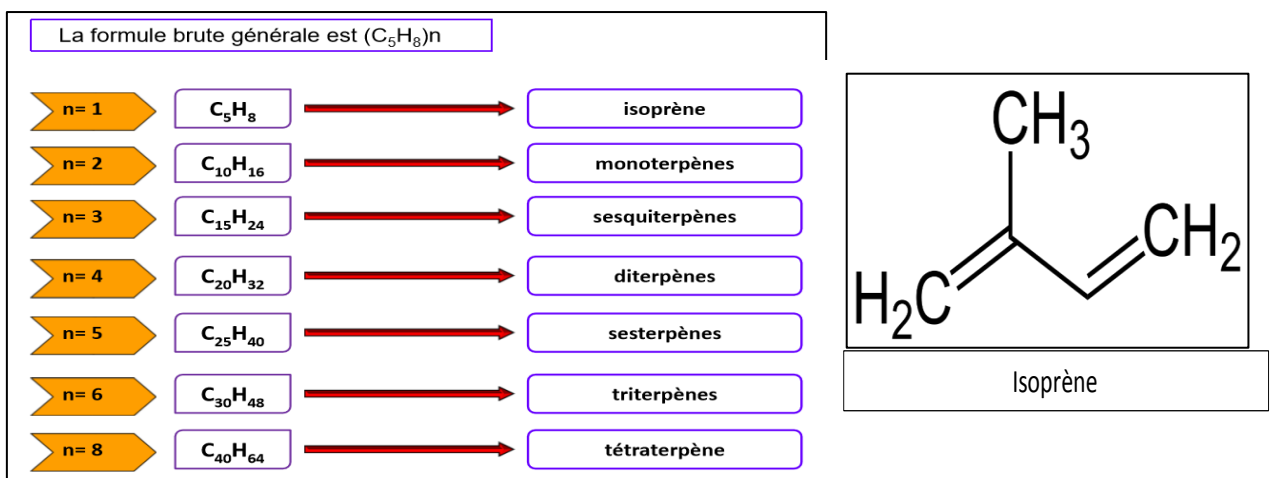
1.3.3. Composés terpéniques

Les terpènes sont une classe d'hydrocarbures. Elle comprend des molécules simples avec des structures linéaires et des molécules complexes cycliques. Les terpènes sont synthétisés à partir d'unité d'isoprène diphosphate composée de 5 C. Ils ne sont pas spécifiques des

végétaux puisque le squalène, le cholestérol ou encore des sesquiterpènes et des diterpènes se rencontrent chez les animaux. [30,35,38]

Les terpènes attirent beaucoup d'attention en raison de leurs rôles physiologiques importants, les rôles écologiques, et leurs larges utilisations dans des applications pharmaceutiques et industrielles allant des arômes et parfums aux médicaments. Ils constituent l'une des plus grandes classes de produits naturels, cela est dû à la diversité chimique incroyable qui peut résulter des transformations biochimiques des unités de démarrage de diphosphate de prényle simples. [39]

La formule de base de toutes molécules terpéniques est $(C_5H_8)_n$ et selon le nombre d'unités d'isoprène, définit les différentes classes de terpènes : [33]



- **Les monoterpènes et les sesquiterpènes**

Issus du couplage de 2 unités isopréniques, les monoterpènes existent dans les huiles essentielles.

Les sesquiterpènes, molécules en C15 se rencontrent aussi dans les huiles essentielles, qui ont des propriétés antiseptiques et antifongiques.

- **Les diterpènes**

Ces composés en C20 peuvent être acycliques ou bi- ou tri-cycliques. Les plus intéressants sur le plan pharmacologique sont les diterpènes tricycliques à noyau taxane

- **Triterpènes**

Ce sont des composés en C30, nous allons les examiner en détail dans le chapitre suivant.

- **Les caroténoïdes**

Ce sont des molécules tétraterpéniques, constituées de l'enchaînement de 8 unités isopréniques, possédant un chromophore caractéristique (au moins 10 doubles liaisons conjuguées) expliquant leur couleur jaune-orangée et leur sensibilité à l'oxydation.

- **Les polyterpènes**

Hautement polymérisés (500 à 5000 restes), ce sont les composants des latex. Si le laticifère est endommagé, les particules de polyterpène s'agglomèrent et permettent de refermer les lésions. [35]

En raison de cette diversité chimique, les polyterpènes ont de grandes utilisations industrielles que des arômes, des parfums, des lubrifiants de haute qualité, les biocarburants, les produits chimiques agricoles et des médicaments. [39]

Note : Les terpénoïdes sont également connus sous le nom d'isoprenoïdes car leur dégradation thermique libère un gaz, l'isoprène. Les terpénoïdes ont des structures analogues aux terpènes, mais ne sont pas des hydrocarbures. Ils possèdent des atomes d'oxygènes donnant lieu à des groupements alcools ou cétones. [38,40]

2. Les métabolites secondaires chez les *Pleurotus eryngii*

En général, Les champignons ont une variété de métabolites secondaires, incluant les composés phénoliques, les polycétides, les terpènes et stéroïdes. [41]

Différentes espèces de *Pleurotus* ne contiennent qu'une grande quantité de polysaccharides, de protéines et de vitamines mais aussi des polyphénols, flavonoïdes, stéroïdes, glycosides, tanins, terpénoïdes, alcaloïdes, glucanes et autres antioxydants. [29]

Pleurotus eryngii est un champignon comestible et médicinal commun, contenant divers composés bioactifs bénéfiques, notamment des métabolites secondaires tels les polyphénols, les flavonoïdes... etc. qui ont des bienfaits pour la santé : guérir diverses maladies et maintenir une bonne santé en activant notre système immunitaire pour une multitude de fonctions défensives. [29]

La présence de ces nutraceutiques leur permet d'exposer différentes activités thérapeutiques comme antitumoral, immunomodulateur, génoprotecteur, anti-inflammatoire, hypocholestérolémique, activités antihypertensives, antiplaquettaires, antihyperglycémiques, antimicrobiennes et antivirales. Un certain nombre de ces nutraceutiques peuvent être dérivés de milieux de culture, mycélium ou extraits de fructification d'huître champignon présentant de nombreuses propriétés médicinales. [42]

III. Les triterpènes

1. Généralités

1.1 Définition

Les triterpènes constituent un groupe majeur de métabolites secondaires trouvés dans la faune et la flore terrestres et marines, ils englobent plus de 4000 composés construits sur plus de 40 squelettes hydrocarbonés différents cycliques ou à chaînes ouvertes (**figure 4**) en C₃₀ dérivés biogénétiquement de l'isoprène actif, d'une grande importance pratique [33,35,43,44,45]

Les triterpènes présentent une très forte unité structurale, les différences majeures sont d'ordre stéréochimique ayant trait à la conformation adoptée par l'époxyqualène avant la cyclisation initiale. Le cation formé lors de cette cyclisation peut ensuite subir une série de déplacements conduisant aux différents squelettes tétra- et pentacycliques qui caractérisent ce groupe de substances naturelles. [43]

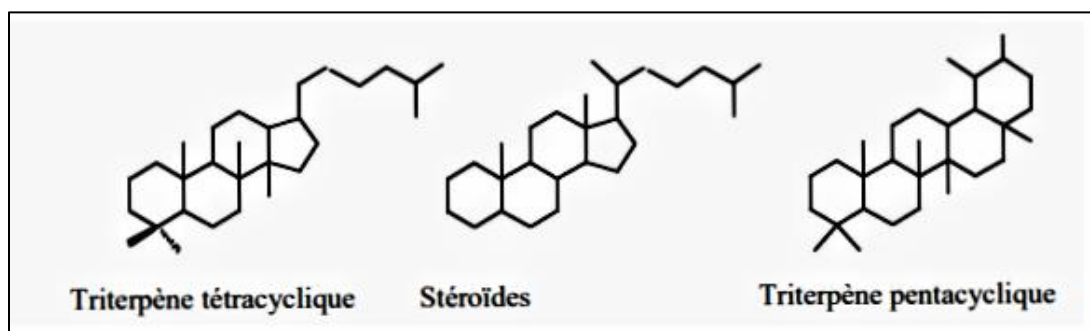


Figure 4 : Squelettes de base des triterpènes. [43]

1.2 Structure et voie de biosynthèse

La synthèse des terpènes commence par la formation d'acide mévalonique à partir de 2 unités d'Acetyl-CoA. L'acide mévalonique va ensuite être phosphorylé puis decarboxylé pour former de l'Isopentenyl pyrophosphate (**figure 5**) et son isomère diméthylallyl-pyrophosphate (**figure 6**), ces derniers sont les précurseurs de biosynthèse d'isoprène l'unité de base des terpénoïdes et des stéroïdes (**figure 7**). [33,38]

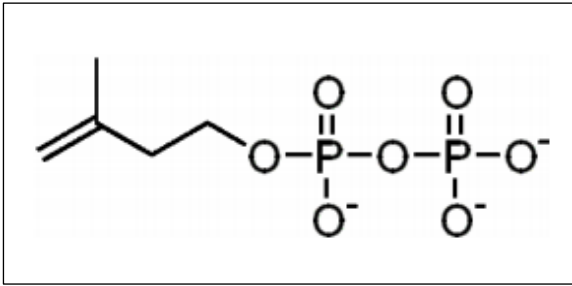


Figure 5 : structure plane de l'IPP. [46]

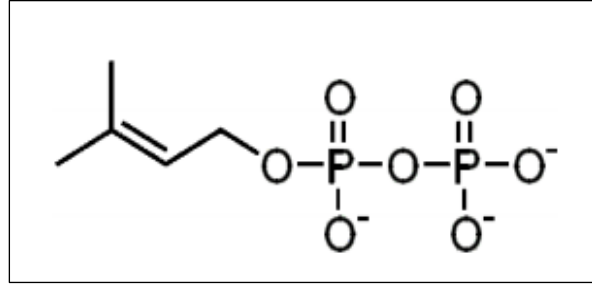


Figure 6 : structure plane du DMAPP. [46]

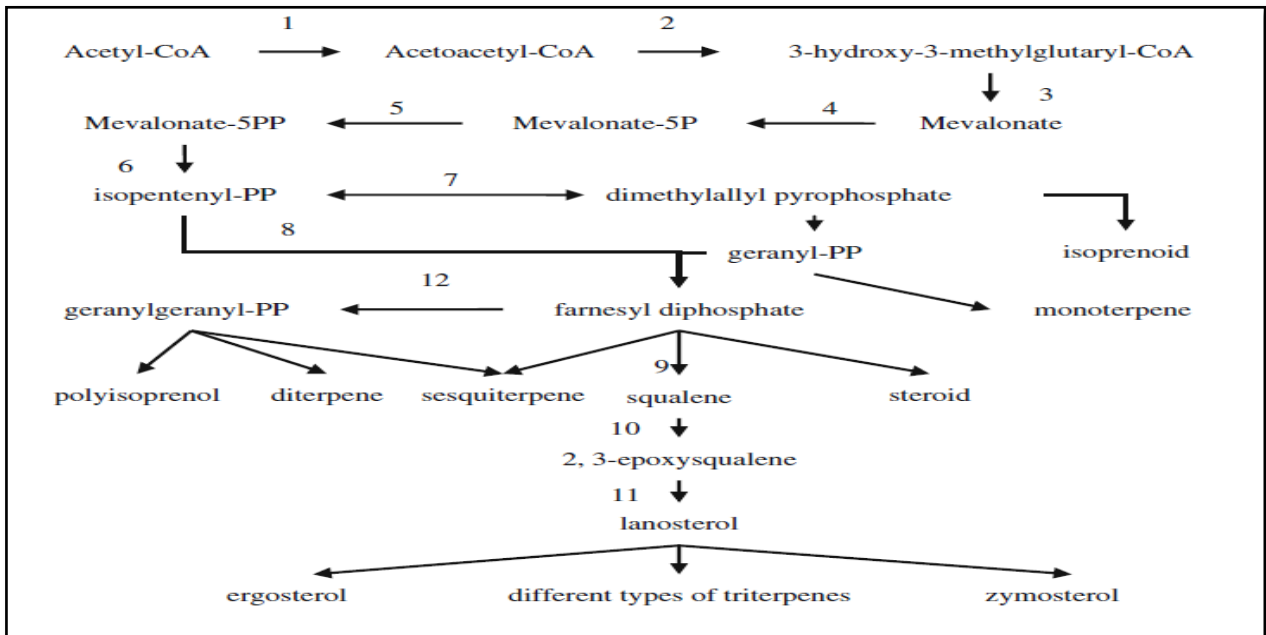


Figure 7 : La voie du mévalonate et biosynthèse du squelette terpénoïde [33]

Les triterpènes issus de la cyclisation de l'époxysqualène ou du squalène (**figure 8**). Du fait de leur cyclisation et de leur oxydation, diverses structures sont formées. Les transformations se produisent de deux manières, l'une produisant des triterpènes tétra- et pentacycliques et l'autre menant par le cycloartenole aux cucurbitacines ou au cholestérol et plus loin aux phytostérols, aux glycosides cardiaques et aux saponines stéroïdiennes. [35,44]

La plupart des triterpènes contiennent 28 ou 29 C et une ou deux doubles liaisons C-C, généralement une dans le noyau stérol et parfois une seconde dans la chaîne latérale alkyle. Les structures les plus courantes des triterpènes comprennent le pentacyclique - oléane, ursane, taraxérane, taraxastane, lupane et tétracyclique - dammarane et cucurbitane. taraxastane, lupane et tétracyclique - dammarane et cucurbitane (**figure 9**). [44,45]

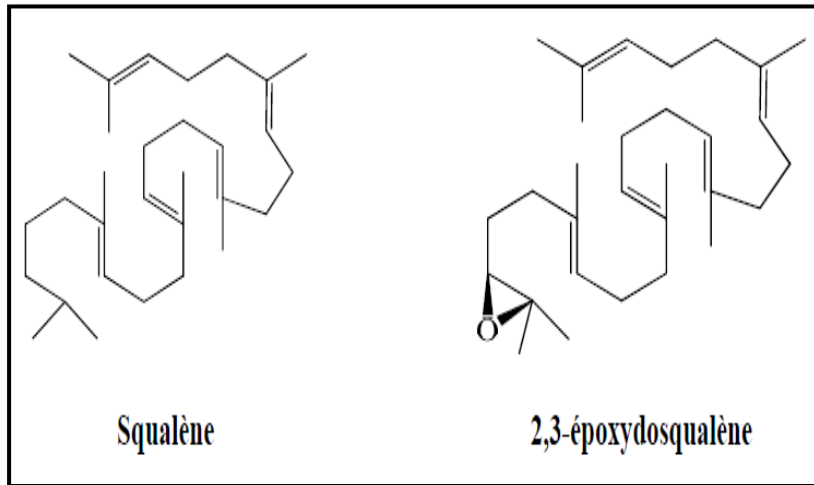


Figure 8 : la structure du squalène et l'époxydosqualène. [43]

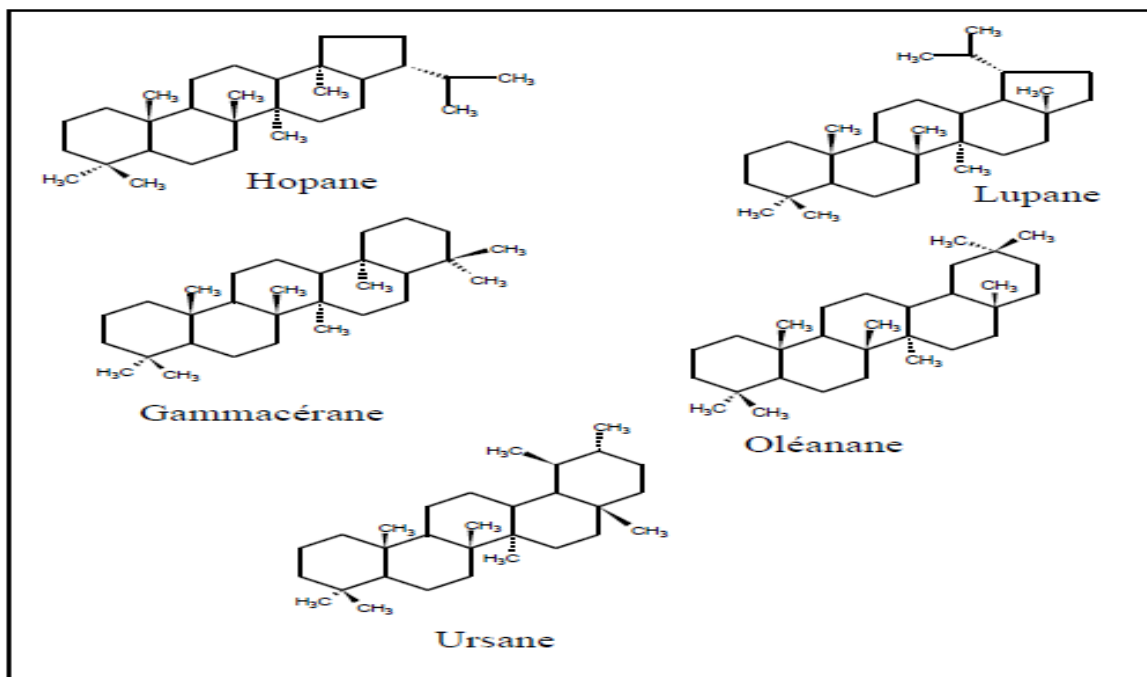


Figure 9: Exemples de structures triterpéniques. [48]

1.3 Sources

Généralement, Les triterpènes existent dans les plantes sous une forme simple non modifiée, ils s'accumulent sous forme conjuguées avec des glucides et d'autres macromolécules, notamment sous forme de glycosides triterpéniques. [47]

Les triterpènes pentacycliques sont également présents dans **les huiles végétales** et les extraits de **germes de céréales, résines, écorces, cires épicuticulaires, cires de fruits, fleurs, tubercules...** Ils sont très répandus dans les **légumes** comme le **chou blanc, le poivre, le concombre, la tomate**, dans les **fruits** comme l'**olive, la figue, la mangue, la fraise, le raisin rouge** et dans les **plantes médicinales** (concernant le lupéol). [45,49]

1.4 Classification et Catégorie

Il existe divers squelettes triterpéniques qui peuvent être classés en : composés **aliphatiques** comme le squalène présents dans les huiles végétales, Composés **tricycliques** comme l'onocérane, des dérivés **tétracycliques** tels les stéroïdes et les phytostérols et les composés **pentacycliques**. [43]

On trouve plus de 80 types de triterpènes distincts, selon leur structure et leurs caractéristiques chimiques : [53]

1.4.1 les stéroïdes

Les stéroïdes peuvent être considérés comme des triterpènes tétracycliques ayant perdu au moins trois méthyles. Structurellement sont des composant essentiels pour les membranes et jouent un rôle dans la signalisation (comme les hormones stéroïdiennes). [35,47]

1.4.2 Les saponosides (les saponines)

Les saponosides constituent un vaste groupe d'hétérosides. Ce sont des molécules composées de deux entités : une génine (appelée aussi aglycone) et une fraction glycoside. Ils peuvent être classés en deux groupes stéroïdique ou triterpénique. Les saponosides triterpéniques ont souvent un squelette pentacyclique, oléananes ou ursanes.

Ils ont des propriétés hémolytiques, antitussives, anti-oedémateuses, analgésiques et une activité spermicide. [35,50]

1.4.3 Les hétérosides cardiotoniques

Les glucosides cardiotoniques sont de structure homogène, comprenant une génine stéroïdique et une partie osidique constituée d'un ose et souvent d'un oligoside. [35]

1.4.4 Autres triterpènes

- **Les cucurbitacines** sont des triterpènes tétracycliques, insaturés et polyfonctionnalisés, Toxiques et amères, elles ont des propriétés purgatives drastiques, ils possèdent une forte activité cytotoxique et antitumorale

- **Les limonoïdes** possèdent une cyclisation et un squelette triterpénique modifié, ils sont responsables de l'amertume qui se développe dans les jus d'agrumes après préparation

- **Les quassinoïdes** ont un squelette triterpénique modifié et dépourvu de la chaîne latérale, ils sont utilisés pour leurs activités insecticides et antiparasitaires, ils sont aussi cytotoxiques et antitumoraux. [35]

1.5 Les effets thérapeutiques et industriels

Les triterpènes sont les principaux composants de certaines herbes médicinales, ils sont utilisés dans les médecines traditionnelles. Pour cette raison, il y a eu une augmentation de l'intérêt thérapeutique et même l'emploi industriel pour les triterpènes durant la dernière décennie. [35,49,51]

La diversité chimique de ces métabolites secondaires se traduit par des propriétés biologiques et pharmacologiques variées et des potentialités thérapeutiques prouvées *in vitro* et *in vivo* dans les domaines les plus divers : **cytostatiques, antiviraux, anti-inflammatoires, anti-œdémateuses, cytoprotectives, immunomodulatrices, analgésiques, antibactériens et antifongiques**. Également, Ils possèdent des bioactivités **antioxydation, (Antidiabétique, antipaludéen, hépatoprotection, anti-hypertension**, en raison de l'inhibition des enzymes responsables de ces phénomènes, et récemment une activité potentielle thérapeutique **contre la maladie d'Alzheimer** a été décrite. Ils sont sélectivement **hypocholestérolémiant**s, ils inhibent la biosynthèse du cholestérol dans les cellules de mammifères. [52,54,55,56]

Au niveau cellulaire, les triterpènes peuvent cibler des processus cellulaires tels que l'apoptose, la régulation du cycle cellulaire et de l'angiogenèse par interaction directe avec des cibles moléculaires aussi, ils ont un rôle déterminant dans les phénomènes de perméabilité membranaire. [33,49]

En particulier on peut noter l'intérêt des hétérosides cardiotoniques ou des sapogénines spirostaniques qui constituent les squelettes de base des **contraceptifs, des anabolisants et des anti-inflammatoires**. En plus, les saponines triterpéniques possèdent des activités **cardiovasculaires, anti-ulcéreuses, anti-allergiques et anti-hépatites**, Mais il faut souligner ses problèmes, qui peuvent diminuer la valeur nutritive des fourrages ou expliquer la toxicité de certaines plantes. Pour les glycosides triterpéniques, ils ont des fonctions écologiques et agronomiques importantes, contribuant à **la résistance aux agents pathogènes** et à **la qualité des aliments** dans les plantes cultivées. [35,47,57]

En dehors des potentialités pharmacologiques des triterpènes, leur toxicité chez les animaux à sang froid est connue depuis l'antiquité. Par les propriétés piscicides et molluscicides des plantes qui les contiennent. [52]

De nombreux triterpènes ont également des applications commerciales dans les secteurs de la biotechnologie alimentaire, cosmétique, et industrielle, ils sont largement utilisés comme arômes comestibles, pigments, polymères, fibres et colles. [47,53]

2. Triterpènes chez *Pleurotus eryngii*

D'après les travaux de (IVONNE J N *et al*, 2013) qui révèlent que les champignons cultivés du genre *Pleurotus* ont démontré une biosynthèse accrue des triterpénoïdes avec une plus grande diversité structurale sur des substrats de résidus de céréales, également sur des substrats contenant des coques de cacao mais avec une teneur inférieure à celle obtenue. [58]

En plus ; Les travaux de (Zhahui Xue *et al*, 2015) montrent que les composés triterpénoïdes pentacycliques qui ont été isolés à partir d'extraits d'EtOAc fraction du sporocarpe du champignon comestible *Pleurotus eryngii* ont une activité anti-tumoral significative contre lignées cellulaires tumorales *in vitro*, donc ils peuvent jouer une prévention du cancer du sein. Cette étude pourrait aider à élucider les avantages pour la santé de *P. eryngii*, et montrer que le *P. eryngii* est très riche en triterpènes. [59]

En outre, Nous savons que le pleurote du Panicaut constitue un excellent hypocholestérolémiant, car ce champignon est riche en triterpènes substance d'origine hypocholestérolémiante. [60]

Etude expérimentale

1. Matériel fongique (Échantillonnages)

1.1. Identification du champignon

La partie expérimentale de ce travail a porté sur le champignon comestible *Pleurotus eryngii* communément appelé « Pleurote du panicaut » (**figure 10**), ce dernier a été identifié par Mr LOUNIS YOUSEF KHODJA, maître assistant « A » : laboratoire de mycologie de biotechnologie et de l'activité microbienne, département de biologie appliquée FSNV. Université des Frères Mentouri Constantine.



Figure 10 : *Pleurotus eryngii*

1.2. Choix du champignon

Pour cette étude en particulier, notre choix est guidé par :

- L'abondance de cette espèce dans notre pays.
- Ce champignon constitue pour nous un champ d'investigation vierge qui peut être à l'origine de nouvelles molécules dotées d'activités thérapeutiques nouvelles. [61]
- la richesse de cette espèce en composés actifs, notamment en triterpènes.
- Il n'y a aucun risque en travaillant sur cette espèce, parce qu'il s'agit simplement d'un champignon non toxique.

1.3. Récolte de matériel

Le pleurote du Panicaut est relativement tolérant au froid, de mai à décembre (SZILI, 1994 ; ALBERT *et al.*, 1995). [14]

Notre champignon a été récolté dans la région de son habitat naturel à Oued el-Athmania; wilaya de Mila qui est située à 44 Km de la wilaya de Constantine, au nord-est d'Algérie durant le mois de septembre et octobre 2019 (**figure 11**).



Figure 11 : carte géographique de la zone de récolte. [62]

Les échantillons *Pleurotus eryngii* fraîchement récoltés sont nettoyés puis laissés sécher à 37°C et pulvérisés puis conservés (figure 12). [59]



Figure 12 : séchage, broyage

2. Criblage des triterpènes (Détection et caractérisation)

Cette étude a été menée au niveau du laboratoire de Biochimie appliquée relevant de l'Université des Frères Mentouri Constantine 1.

Les tests de caractérisation sont basés sur une extraction simple et rapide, nous avons caractérisé la présence des triterpènes par la réaction de "Lieberman-Burchard". Cette réaction est un test qualificatif qui permet de révéler la présence des triterpènes. Un extrait est préparé à partir d'une macération de **1g** de poudre fongique dans **20 ml d'éther éthylique** ($(C_2H_5)_2O$) pendant 24h.

Les triterpènes sont mis en évidence par l'ajout de **1 ml de CHCl_3** au résidu de **10ml de** l'extrait de macération. La solution obtenue est partagée dans deux tubes à essais, puis **1 à 2 ml de H_2SO_4** concentrés sont ajoutés goutte à goutte au fond de l'un des tubes, l'autre servira de témoin.

La réaction est effectuée à température ambiante, la formation d'un anneau rouge brunâtre ou violet à la zone de contact révèle la présence des triterpènes. [63]

3. Extraction

3.1. Préparation d'extrait

100 g de poudre du "*Pleurotus eryngii*" a été mise à macérer dans une quantité déterminé de méthanol (jusqu'à l'émergence de la poudre fongique, presque 1 litre) pendant une nuit à température ambiante comme une étape préliminaire de l'extraction solide-liquide (figure 13).

La macération est une méthode d'extraction solide-liquide. Elle consiste à tremper une substance dans un solvant froid ou chaud, pour extraire les molécules solides ou liquides présentes dans une substance naturelle par sa dissolution dans ce solvant, à température ambiante sous agitation ou pas. [64]



Figure 13 : macération

L'extraction a été réalisée avec le méthanol à l'aide d'un chauffage à reflux pendant 6 heures (figure 14).



Figure 14 : montage de chauffage à reflux

Après filtration sous vide (**figure 15**), le filtrat obtenu de couleur rouge brique a été évaporé à l'aide d'un évaporateur rotatif à une température de 60°C pendant 3h (**figure 16**).

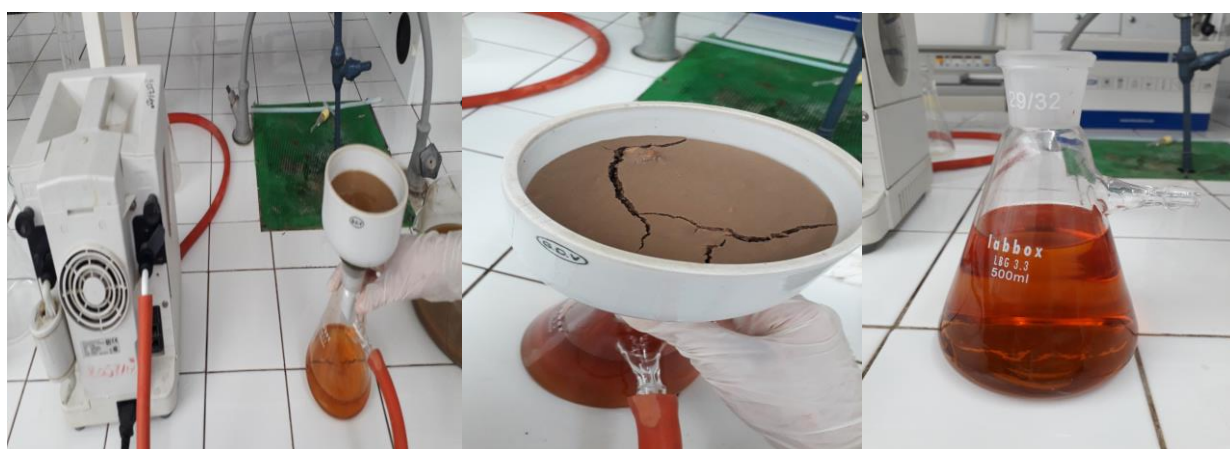


Figure 15 : filtration sous vide



Figure 16 : élimination du solvant par l'évaporateur rotatif

3.2. Extraction liquide-liquide

L'extrait sec obtenu a été resuspendu dans l'eau distillée avec une agitation manuelle dans un bain-marie.

L'extrait liquide du "*Pleurotus eryngii*" est soumis à plusieurs affrontements par divers solvants organiques non miscibles à l'eau, avec une polarité croissante allant du moins polaire au plus polaire (extraction liquide-liquide) afin de séparer les différents composés **selon leurs polarités**.

Ces affrontements se font dans des ampoules à décanter en commençant par : Ether de pétrole puis l'acétate d'éthyle et le dernier solvant est le n-butanol.

L'extraction liquide-liquide est une opération fondamentale de transfert de matière entre deux phases liquides non miscibles (l'une aqueuse et l'autre organique). [65]

- **Affrontement avec EP** : utilisé pour extraire les composés non phénolique : acide gras ; les huiles... = Délipidation » nous avons réalisé deux affrontements, dans le premier nous avons versé 200ml de l'extrait et ajouté 200ml du solvant (V/V), les deux phases sont mélangés énergiquement ; en laissant sortir à chaque fois les gaz des produits. Dans le deuxième affrontement nous avons ajouté juste 100ml du solvant. Après le repos d'une nuit, on récupère séparément le solvant utilisé chargé de ses composés spécifiques (en haut=phase organique) et la phase eau (en bas=phase aqueuse).

- **Affrontement avec EtOAc**: utilisé pour extraire les composés moyennement polaires tel que les terpènes ; les alcaloïdes ; les acides phénolique ; flavonoïdes aglycone et les monoglucosides ; nous avons réalisé 3 affrontements, le 1^{er} affrontement (V/V), 2^{ème} (V/1/2V), 3^{ème} (V/1/2V) avec les mêmes étapes. C'est le solvant qui va entraîner les tritérpènes. (**Figure 17**)

- **Affrontement avec n-BuOH**: entraine le reste des composés polaires tel que les flavonoïdes di-o et tri-o glycosides et les C glycosides.

Les trois phases organiques récupérés « phase d'éther de pétrole ; d'acétate d'éthyle et la phase de n-butanol » ont été évaporés à sec à l'aide d'un évaporateur rotatif à ces températures «40°C : 40°C et 60°C » successivement. Nous avons récupéré trois extraits secs par le méthanol afin de savoir leurs profils chromatographiques et évaluer leur pouvoir antibactérien.

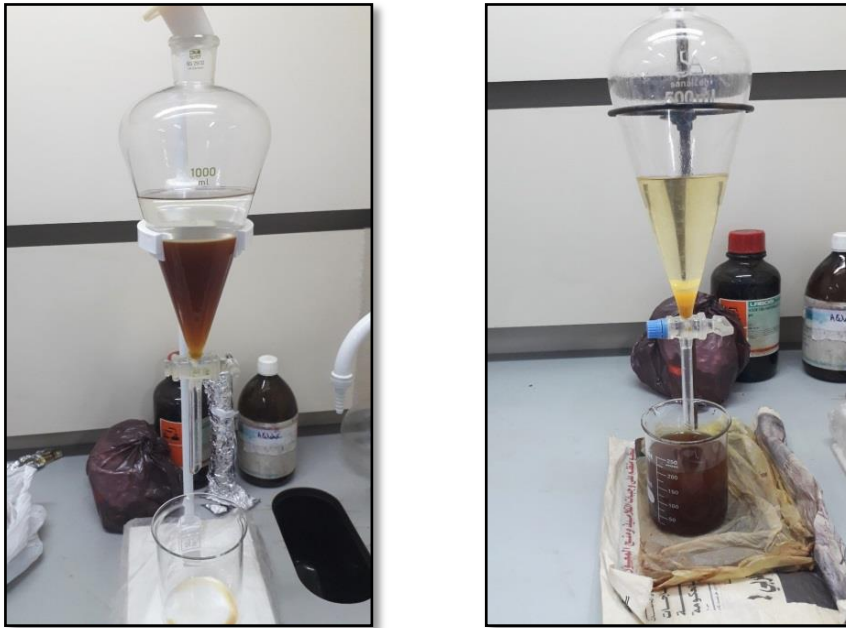


Figure 17 : Affrontement d'extrait du "*Pleurotus eryngii*" avec éther de pétrole, et acétate d'éthyle

Le protocole qui montre les différentes étapes d'extraction est résumé dans le planning suivant: (**figure 18**)

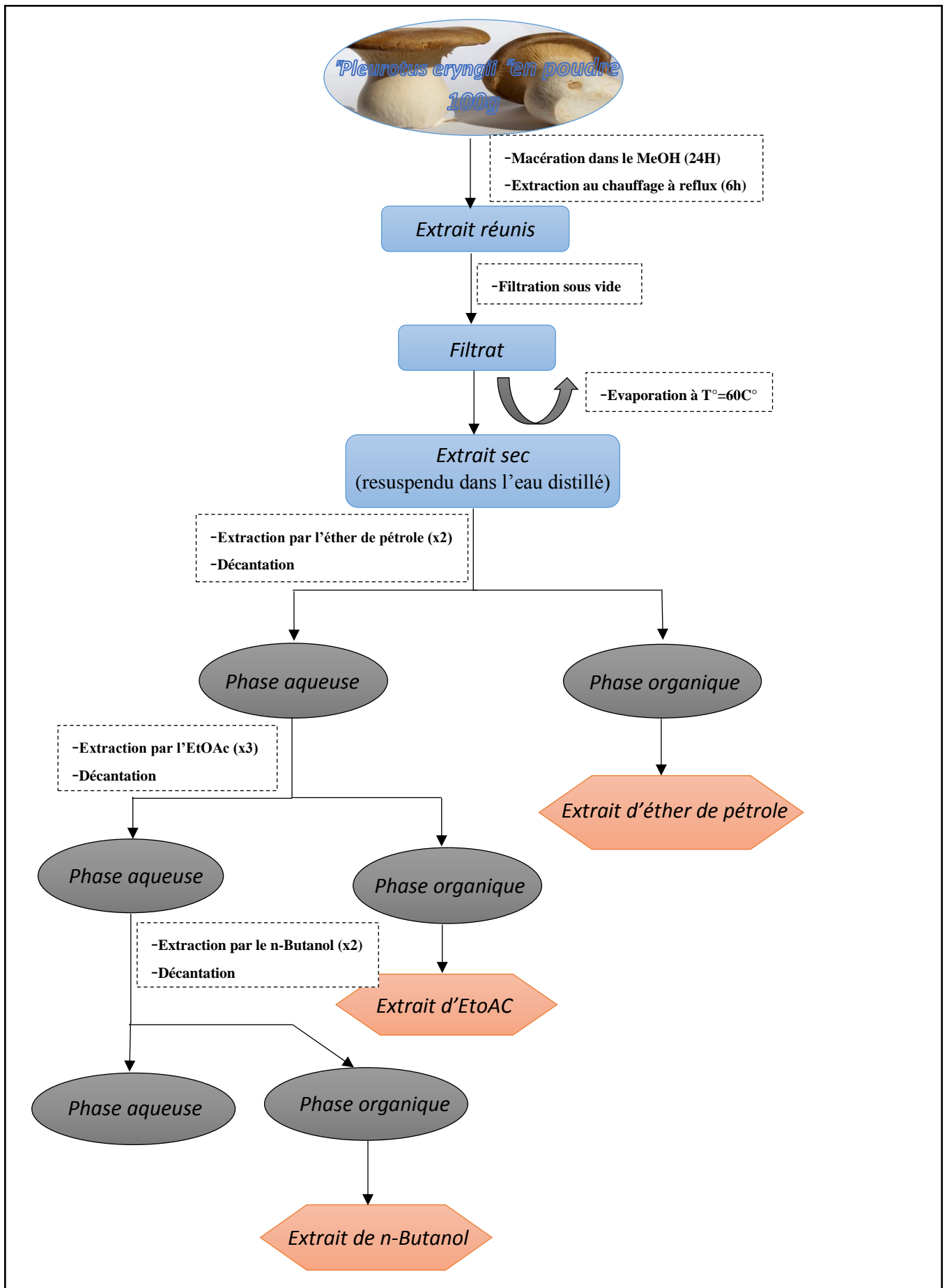


Figure 18 : Organigramme récapitulatif des étapes d'extraction des tritérpènes [66]

1. Criblage des triterpènes

Nous avons utilisé le test de Lieberman-Burchard à fin de vérifier la présence ou l'absence des triterpènes dans le champignon étudié, la présence de ces métabolites est basée sur des phénomènes de coloration. Les résultats du *screening* sont classés en fonction des différents critères d'observation, entre autre :

- 1) (+) : Réaction moyennement positive, présence en faible quantité
- 2) (+ + +) : Réaction positive, présence en forte quantité : très abondant.
- 3) (-) : Réaction négative, absence des composés.

Les résultats sont consignés dans les tableaux ci-dessous.

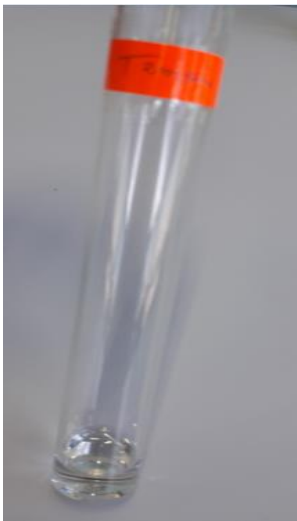

Test	Témoin (blanc)	L'extrait (+H ₂ SO ₄)
Test de Lieberman-Burchard		
Résultats	-	+++
Coloration	Transparent	un anneau rouge brunâtre

Tableau II : résultat de recherche des triterpènes chez le *Pleurotus eryngii*.

Les résultats de criblage définis dans le tableau II indiquent une forte présence des triterpènes dans le champignon *Pleurotus eryngii*. Nos résultats concordent aussi avec les travaux de (Zhahui Xue *et al*, 2015), (Zhiming F *et al*, 2016) et (Tzu-Tai Lee *et al*, 2015) qui montrent que le *Pleurotus eryngii* est riche en triterpènes. [29,59,67]

Conclusion

Le nombre limité des médicaments disponibles, leurs coûts, leurs effets indésirables et l'émergence de résistances, exigent la recherche de nouveaux agents thérapeutiques, spécialement les médicaments traditionnels et leur intérêt, qui s'est accru durant la dernière décennie

A côté des plantes, Les champignons médicinaux constituent une source prometteuse de nouvelles molécules bioactives d'origine naturelle. Parmi ces molécules, les triterpènes qui sont les principaux composants de certaines herbes médicinales, ils sont utilisés dans les médecines traditionnelles. Pour cette raison, il y a eu une augmentation de leur intérêt thérapeutique et même leur emploi industriel.

Dans ce contexte, une étude mycochimique a été menée sur les triterpènes du champignon *Pleurotus eryngii* connue sous le nom de : Pleurote du panicaut du nord-est d'Algérie.

À fin de vérifier la présence ou l'absence des triterpènes dans le champignon étudié nous avons utilisé des tests physico-chimiques simples du criblage des triterpènes. Les résultats du screening indiquent une forte présence des triterpènes dans notre échantillon

Après avoir réalisé ces tests, une extraction liquide-liquide des triterpènes a été effectuée sur 100g du champignon, en utilisant des solvants d'extraction qui se différencient par leur polarité, et d'après la bibliographie le rendement le plus élevé a été enregistré dans la phase Acétate d'éthyle

Nous nous sommes également intéressés à utiliser la chromatographie analytique sur couche pour la mise en évidence des différents triterpènes extraites à partir de notre échantillon *Pleurotus eryngii*, et d'utiliser la chromatographie sur colonne pour la séparation et la purification des extraits, et aussi évaluer certaines activités biologiques antimicrobiennes, antifongiques, enzymatiques...

Généralement les triterpènes ont une biodiversité chimique immense, cela se traduit par des propriétés biologiques et pharmacologiques variées qui demandent d'être exploitées par les recherches, de cet effet, et comme perspectives on propose :

- trouver des molécules d'intérêt aussi bien d'un point de vue anticancéreuse jouer une prévention du cancer du sein par une étude plus approfondie des extraits de notre champignon
- Identification structurales des produits obtenus en utilisant les méthodes d'identification (RMN, UV, IRetc).
- Déterminer de nouvelles substances bioactives naturelles et isoler d'autres métabolites secondaires contenus dans nos extraits
- L'utilisation des triterpènes comme médicaments devrait être envisagée pour de futures recherches.

Références bibliographiques

- [1] **Rampin M. (2017)**. Champignons « médicinaux » : de l'usage traditionnel aux compléments alimentaires. Diplôme d'état de docteur en pharmacie : Faculté des sciences pharmaceutiques. Université Toulouse III Paul Sabatier, 117p.
- [2] **Hassan, FRH Ghada M. Medany, SD Abou Hussein. (2010)**. Culture du champignon King Oyster (*Pleurotus Eryngii*) en Egypte Culture. *Australian Journal of Basic and Applied Sciences*, **4** (1). 105p.
- [3] **Blandeau., E. (2012)**. Etat des lieux du potentiel anticancéreux de neuf champignons macroscopiques. Pharmacie. Université ANGERS, 112p.
- [4] **JAYAKUMAR T; RAMESH E; GERALDINE P. (2006)**. Antioxidant activity of the oystermushroom, *Pleurotus ostreatus*, on CCl₄-induced liver injury in rats. *Food Chem Toxicol.* **44**: 1996p.
- [5] **JEONGYONG-TAE JEONG; SANG-CHULJEONG et al. (2010)**. Antitumor and immunomodulating activities of endo-biopolymers obtained from a submerged culture of *Pleurotus eryngii*. *Food Science and Biotechnology.* **19**(2): 404p.
- [6] **Victoriano D ; Jesús F et al. (2009)**. Unusually cyclized triterpenes: occurrence, biosynthesis and chemical synthesis. *The Royal Society of Chemistry.* **26**, 134p.
- [7] **Jose-Luis R. (2010)**. Effects of triterpenes on the immune system. *Journal of ethnopharmacology.* **128**(1): 14p.
- [8] **Laurent P. (2003)**. Regard sur les champignons. SMHV, société mycologique des hautes-vosges. 52p.
- [9] **Vincent S L. (2008)**. Le monde fongique, l'univers des champignons. 7p.
- [10] **Fons F., Rapior S., Morel S. (2018)**. L'importance des champignons pour l'Homme : intérêts, dangers et perspectives. *Annales de la société d'horticulture et d'histoire naturelle de l'hérault.* **V (157)**. 51p.
- [11] <https://docplayer.fr/26685819-Les-champignons-de-sante-et-de-longevite.html> consulté le 09/03/2020

- [12] **Benazza-Bouregba M. (2017)**. Inventaire et identification des basidiomycetes de la forêt de m'sila (Oran). Thèse de Doctorat en Biotechnologie, Microbiologie. Université d'Oran1. p 27.
- [13] **Lecellier., A. (2013)**. Caractérisation et identification des champignons filamenteux par spectroscopie vibrationnelle. Biologie-Biophysique. Université : Reims Champagne-Ardenne. p 21.
- [14] **Szarvas J. (2011)**. Törzs-összehasonlító vizsgálatok és gyakorlati fejlesztések az ördögsekér [*Pleurotus eryngii* (DC.:Fr.) Quél.] termesztésében. DOKTORI ÉRTEKEZÉS : Élettudományi Területi. A Budapesti Corvinus Egyetem, 221p
- [15] <https://pretapousser.fr/magazine/pleurote-proprietes-bienfaits-recettes> consulté 09/03/2020
- [16] **Masri H.J., Maftoun P. (2017)**. The Edible Mushroom *Pleurotus spp.*: II. Medicinal Values. *International Journal of Biotechnology for Wellness Industries*; **6**: 299p.
- [17] **Tomer M., Salame., Doriv K., et al. (2012)** Predominance of a Versatile-Peroxidase-Encoding Gene, *mnp4*, as Demonstrated by Gene Replacement via a Gene Targeting System for *Pleurotus ostreatus*. *Journal of ASM org*; **78**: 5341 p.
- [18] **Adebayo E. A., Martínez-Carrera D. (2015)** Oyster mushrooms (*pleurotus*) are useful for utilizing lignocellulosic biomass. *african Journal of biotechnology*; **14 (1)** : 67p.
- [19] **Krüzseli D., Kovács D., and vetter J. (2016)**. Chemical analysis of king oyster mushroom (*Pleurotus eryngii*) fruitbodies. *Acta Alimentaria*; **45 (1)**. 27p.
- [20] **Samsam S. H., Farid H., and Kavianpour M. (1994)**. A study of anthelmintic activity of aqueous extract of *Pleurotus eryngii* on *Syphacia obvelata* and *Hymenolepis nana*. *Journal of Sciences, Islamic Republic of Iran*; **5**: 22p
- [21] **Mau J.L., Lin Y.P., et al. (1998)**. Composés de saveur à King Oyster champignons Pleurote du panicaut. *Journal de la chimie agricole et alimentaire*; **46**: 4590 p.
- [22] https://fr.wikipedia.org/wiki/Pleurotus_eryngii consulté le 09/03/2020
- [23] https://champyves.pagesperso ange.fr/champignons/fichier_htm/lames/Pleurotus_eryngii.html consulté le 31/03/2020
- [24] **Boutera K., Hammoudi I. (2016)**. Etude extractive des alcaloïdes et évaluation de leur l'activité antimicrobienne du champignon *Pleurotus eryngii*. Mémoire de master: Biochimie Moléculaire et Santé. Constantine : Université les Frère Mantouri. Algérie. Page : 5

- [25] <https://cuisine.journaldesfemmes.fr/encyclopedie-produits/1957566-pleurote/> consulté 19/03/2020
- [26] Mirjana S., Jelena V., and Sonja D-L. (2009). Biology of *Pleurotus eryngii* and role in biotechnological processes: a review. *Critical Reviews in Biotechnology*; **29(1)** : 66p.
- [27] Boisselier-Dubamyl M.C., Baudoin R. (1986). Contribution de l'étude du polymorphisme enzymatique à la systématique des Pleurotes des Ombellifères. *Canadian Journal of Botany*; **64**. 1473p.
- [28] Rodrigues D.M.F., Freitas A.C. (2015). Chemical composition and nutritive value of *Pleurotus citrinopileatus* var *cornucopiae*, *P. eryngii*, *P. salmoneo stramineus*, *Pholiota nameko* and *Hericium erinaceus*. *Journal of Food Science and Technology*; **10** : 1826p
- [29] Zhiming F., Liu Y., and Zhang Q. (2016). A Potent Pharmacological Mushroom: *Pleurotus eryngii*. *Journal of Fungal Genomics & Biology*; **6** : numero 1.
- [30] Navarri M. (2017). Métabolites secondaires de champignons de sédiments marins profonds : criblages génétique et fonctionnel et caractérisation structurale de molécules antimicrobiennes. Thèse de Doctorat : Biochimie, Biologie Moléculaire. Université de Bretagne occidentale, 184 p.
- [31] Cassar A. (2016). La culture des macromycètes entrant dans la composition des compléments alimentaires. Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie : UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques. Université de MONTPELLIER, 155p.
- [32] Awad G. (2005). Caractérisation et étude de l'effet des sources de carbone et d'azote sur la production de nouveaux métabolites secondaires chez *Aspergillus ochraceus* non producteur de l'ochratoxine A. Thèse de Doctorat: génie des procédés. L'institut national polytechnique de Toulouse, 175p.
- [33] Melouka H. (2018). Production de métabolites secondaires et d'enzymes par les champignons *Ganoderma* spp. Et *Fomes fomentarius* L. de la région d'El-Kala, Algérie. Thèse de Doctorat: Microbiologie Appliquée. Université Badji Mokhtar – Annaba, 377p
- [34] Bouque V. (1997). Etude de la production de métabolites secondaires par des cultures in vitro de Psoralées (Leguminosae). Thèse de doctorat: de l'INPL en Sciences Agronomiques. Ecole Supérieure d'Agronomie et des Industries Alimentaires, 187p.

- [35] **Krief S. (2003)**. Métabolites secondaires des plantes et comportement animal: surveillance sanitaire et observations de l'alimentation des chimpanzés en Ouganda. Activités biologiques et étude chimique de plantes consommées. Thèse de doctorat: écologie et chimie des substances naturelles. Muséum national d'histoire naturelle, 334p.
- [36] **Mekkiou R. (2005)**. Recherche et Détermination Structurale des Métabolites Secondaires d'espèces du Genre *Genista (Fabaceae)* : *G. saharae*, *G. ferox*. Thèse de Doctorat : Chimie Organique, Phytochimie. Université Mentouri – Constantine, 194p.
- [37] **Bénard C. (2009)**. Etude de l'impact de la nutrition azotée et des conditions de cultures sur le contenu en polyphénols chez la tomate. Thèse de Doctorat de l'INPL : Sciences Agronomiques. Université – INRA Agronomie et Environnement Ecole doctorale RP2E, 259p.
- [38] **Senequier-Crozet A., Canard B. (2016)**. Les champignons endophytes, impact sur les écosystèmes et production de molécules d'intérêt thérapeutique. Thèse de Doctorat: en pharmacie. Université grenoble alpes, 102p.
- [39] **Jiang Z., Kempinski C., et Chappell J. (2016)**. Extraction and Analysis of Terpenes/Terpenoids. *current protocols in plant biology* ; **1** : 358p.
- [40] **Legrand G. (2015)**. Contribution à la caractérisation du métabolisme des acides chlorogéniques chez la chicorée: approches biochimiques et moléculaire. Thèse de doctorat : école doctorale sciences de la matière, du rayonnement et de l'environnement. Université de Lille 1, 125p.
- [41] **Sasidhara R., Thirunalasundari T. (2014)**. Phytochemicals and antioxidant potentials of *Pleurotus djamor*. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*; **6(4)**: 950p.
- [42] **Paul C., Roy T., et Das N. (2017)**. Potentiality of Oyster Mushroom (*Pleurotus Spp.*) in Medicine- A Review. *Annals of Food Processing and Preservation*; **2(2)**: 8p.
- [43] **Benabdelaziz I. (2017)**. Cours master 1 : chimie des produits naturels. Université Ziane Achour, 16p.
- [44] **J. Nazaruk • M. Borzym-Kluczyk. (2014)**. The role of triterpenes in the management of diabetes mellitus and its complications. *Phytochem Rev.* **14**: 690p.
- [45] **Saleem M., (2009)**. Lupeol, A Novel Anti-inflammatory and Anti-cancer Dietary Triterpene. *NIH Public Access Author Manuscript* ; **285(2)**: 41p.

- [46] Fontanay S. (2012). Complexation de triterpènes pentacycliques par des cyclodextrines. Caractérisation physicochimique et activités biologiques. Thèse de doctorat. Université de Lorraine, 287p.
- [47] Thimmappa R *et al.* (2014). Triterpene Biosynthesis in Plants. *Article in Annual Review of Plant Biology* ; **65**: 257p.
- [48] Jemmali Z. (2016). Développements méthodologiques en TLC/MALDITOF MS et GC/MS pour l'analyse des composés terpénoïdes présents dans les résines végétales. Thèse de Doctorat : Chimie organique et analytique. Université d'Orléans, 249p.
- [49] Jacob J. (2003). Enregistrement des variations paléoenvironnementales depuis 20000 ans dans le Nord Est du Brésil (Lac Caço) par les triterpènes et autres marqueurs organiques. Thèse de Doctorat : Géochimie. Université d'Orléans, 290p.
- [50] Guillaume D., Charrouf Z. (2005). Saponines et métabolites secondaires de l'arganier (*Argania spinosa*). *Cahiers Agricultures* ; **vol 14**: 516p.
- [51] Liu J., LIU Y., *et al.* (1993). The Effects of 10 Triterpenoid Compounds on Experimental Liver Injury in Mice. *Fundamental and applied toxicology* ; **22** : 40p.
- [52] Hamimed S. (2009). Caractérisation chimique des principes à effet antidermatophyte des racines d'*Anacyclus pyrethrum* L. Mémoire de magistère. Université Mentouri Constantine, 127p.
- [53] Mei-Chin Yin. (2015). Inhibitory effects and actions of pentacyclic triterpenes upon glycation. *Journal of BioMedicine*. **Vol. 5**, No. 3, Article 1, 8p.
- [54] Fontanay S. (2012). Complexation de triterpènes pentacycliques par des cyclodextrines : caractérisations physicochimiques et activités biologiques. Thèse de Doctorat : Sciences de la Vie et de la Santé. Université de Lorraine, 287p.
- [55] S.-B. Lin *et al.* (2003). Triterpene-enriched extracts from *Ganoderma lucidum* inhibit growth of hepatoma cells via suppressing protein kinase C, activating mitogen-activated protein kinases and G2-phase cell cycle arrest. *Life Sciences* ; **72 (2003)** :2389p.
- [56] Luu B., Ourisson G. (1989). Stérols et triterpènes polyoxygénés : une famille de produits à large spectre d'activités biologiques. *médecine/science* ; **5**: 407p.

- [57] Arntzen *et al.* (2002). Triterpene compositions and methods for use thereof. *United States Patent*; **6,444,233 B1**: 126p.
- [58] Ivonne J. N., Carolina Chegwin A. (2013). The effect of different substrates on triterpenoids and fatty acids in fungi of the genus *Pleurotus*. *Journal of the Chilean Chemical Society*; **58** : 3365p.
- [59] Zhaohi.Xue *et Al.*, (2015). Structure Identification of Triterpene from the Mushroom *Pleurotus eryngii* with Inhibitory Effects Against Breast Cancer. *Plant foods hum nutr* ; **70(3)** : 291p.
- [60] <https://www.soignez-vous.com/traitements/champignons-medicinaux-la-phytotherapie-non-verte> consulté le 05/06/2020
- [61] Abdellaoui S., Ouahchi A. (2019). Étude du polyphénol de deux plante de la famille Asteracées et Lamiacées. Thèse de doctorat : Chimie organique. Université Mohamed Boudiaf - M'sila, 55p.
- [62] https://www.viamichelin.fr/web/Cartes-plans/Carte_plan-Oued_Athmania-_Mila-Algerie consulté le 05/06/2020
- [63] Berrani A., Lrhorfi L.A., *et al.* (2015). Screening of two phytochemical medicinal plants: *Vitex agnus castus* and *Anabasis aretioides*. *ScienceLib* ; **Vol 7** : 23p.
- [64] Sebbane B., Khaldi M. (2019). Quelques composés secondaires isolés à partir des plantes de la famille de Cupressacée (*Cupressus sempervirens*, *Juniperus oxycedrus* et *Juniperus communis*) : extraction, caractérisation et activité antibactérienne. Mémoire du diplôme Master : Biochimie Appliquée. Université Akli Mohand Oulhadj – Bouira, 51p.
- [65] Benabdallah H. (2015). Techniques d'extraction, de purification et de conservation. Polycopié du Cours de Master I: Analyses biochimiques. Université Ferhat Abbas de Sétif. 77p.
- [66] Zhaohui .Xue., Lijuan zhai *et al.* Antitumor and Immunomodulatory Activity of *Pleurotus eryngii* Extract. *Journal of Foud Biocgemistry*.2015; **39(1)**: 27p.
- [67] Tzu-Tai Lee¹, Jhih-Ying Ciou, Chung-Nan Chen, Bi Yu. (2015). The effect of *Pleurotus eryngii* stalk residue dietary supplementation on layer performance, egg traits and oxidative status. *Ann. Anim. Sci.*, **Vol. 15**, No. 2 , 461p.

Résumé

Etude bibliographique du Champignon *Pleurotus eryngii* et extraction des triterpènes à partir de l'espèce Algérienne

Notre recherche porte sur l'étude du champignon *Pleurotus eryngii* aussi appelé Pleurote du panicaut récolté dans la région de Oued el Athmania (wilaya de Mila) au nord-est d'Algérie, c'est est un champignon comestible largement cultivé, il a une longue histoire d'utilisation dans la médecine traditionnelle en raison de sa richesse nutritive et ses bienfaits perçus pour la santé, ses fonctions biologiques ont longtemps été décrites dans la médecine traditionnelle chinoise. À la lumière de ces données, nous avons choisi de réaliser une étude sur les triterpènes dans ce champignon. Ces substances sont parmi les plus importants groupes de produits naturels, en raison de leurs propriétés biologiques et de leur diversité structurale. Après avoir récolté le matériel, un criblage des triterpènes a été effectué, dont les résultats indiquent une forte présence de ces métabolites dans notre champignon. A l'issue du screening, nous avons réalisé une extraction liquide-liquide des triterpènes du 100g de l'espèce *Pleurotus eryngii* par trois solvants « Ether de pétrole, Acétate d'éthyle et le n-Butanol ».

Mots clés : *Pleurotus eryngii*, métabolites secondaires, tritérpenes, extraction.

دراسة بيولوجية لـ *Pleurotus eryngii* وفطر *Pleurotus eryngii* واستخراج ترايثيربينز من الأنواع الجزائرية

يتعلق بحثنا بدراسة فطر *Pleurotus eryngii* المسمى أيضًا *Pleurote du panicaut* الذي يتم حصاده في منطقة واد العثمانية (ولاية ميلا) في شمال شرق الجزائر، وهو فطر صالح للأكل يزرع على نطاق واسع، له تاريخ طويل من الاستخدام في الطب التقليدي نظرًا لغناه بالعناصر الغذائية وفوائده الصحية المتطورة، فقد تم وصف وظائفه البيولوجية منذ فترة طويلة في الطب الصيني التقليدي. على ضوء هذه البيانات، اخترنا إجراء دراسة على ترايثيربين في هذه الفطريات. تعتبر هذه المواد من أهم مجموعات المنتجات الطبيعية، بسبب خصائصها البيولوجية وتنوعها الهيكلي.

بعد جمع المادة، تم إجراء فحص لـ ترايثيربين، والتي تشير نتائجها إلى وجود قوي لهذه المستقلبات في فطرنا. في نهاية الفحص، أجرينا استخراج سائل-سائل من ترايثيربينات من 100 جرام من أنواع *Pleurotus eryngii* مع ثلاثة مذيبات "الأثير البترولي، وخلات الإيثيل، و n-البوتانول".

الكلمات المفتاحية: *Pleurotus eryngii*، المركبات الثانوية، ترايثيربينات، استخراج.

Summary

Bibliographical study of the fungus *Pleurotus eryngii* and extraction of triterpenes from the Algerian species

Our research focuses on the study of the fungus *Pleurotus eryngii* also called Pleurote du panicaut harvested in the region of Oued el Athmania (wilaya of Mila) in the north-east of Algeria, it is a widely cultivated edible mushroom, it has a long history of use in traditional medicine due to its nutrient richness and perceived health benefits, its biological functions have long been described in traditional Chinese medicine. In the light of these data, we chose to carry out a study on the triterpenes in this fungus. These substances are among the most important groups of natural products, due to their biological properties and their structural diversity. After harvesting the material, a screening for triterpenes was performed, the results of which indicate a strong presence of these metabolites in our fungus. At the end of the screening, we carried out a liquid-liquid extraction of the triterpenes from 100g of the *Pleurotus eryngii* species with three solvents "Petroleum ether, Ethyl acetate and n-Butanol".

Keywords : *Pleurotus eryngii*, secondary metabolites, triterpenes, extraction.

Année universitaire : 2019/2020

Présenté Djebli Rayene

par : Rebiai Amani

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE DU CHAMPIGNON *PLEUROTUS ERYNGII* ET EXTRACTION DES TRITERPENES À PARTIR DE L'ESPÈCE ALGÉRIENNE

Mémoire de fin de cycle pour l'obtention du diplôme de Master en Biochimie Appliquée.

Résumé :

Notre recherche porte sur l'étude du champignon *Pleurotus eryngii* aussi appelé Pleurote du panicaut récolté dans la région de Oued el Athmania (wilaya de Mila) au nord-est d'Algérie, c'est un champignon comestible largement cultivé, il a une longue histoire d'utilisation dans la médecine traditionnelle en raison de sa richesse nutritive et ses bienfaits perçus pour la santé, ses fonctions biologiques ont longtemps été décrites dans la médecine traditionnelle chinoise. À la lumière de ces données, nous avons choisi de réaliser une étude sur les triterpènes dans ce champignon. Ces substances sont parmi les plus importants groupes de produits naturels, en raison de leurs propriétés biologiques et de leur diversité structurale. Après avoir récolté le matériel, un criblage des triterpènes a été effectué, dont les résultats indiquent une forte présence de ces métabolites dans notre champignon. A l'issue du screening, nous avons réalisé une extraction liquide-liquide des triterpènes du 100g de l'espèce *Pleurotus eryngii* par trois solvants « Ether de pétrol, Acétate d'éthyl et le n-Butanol ».

Mots clés : *Pleurotus eryngii*, Métabolites secondaires, Triterpènes, Extraction.

Laboratoire de recherche : Laboratoire de Biochimie appliquée relevant de UFM , Constantine 1.

Jury d'évaluation :

Président : Mr BENSEGUENI A. (Professeur à UFM, Constantine 1)

Rapporteur : Mme TENIOU S. (MAA à UFM, Constantine 1)

Examineur : Mr CHIKHI A. (Professeur à UFM, Constantine 1)

Date de soutenance : 10/09/2020